NOTICE

SUR LES

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DU

Dʀ E. ROUX

SOUS-DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE



PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1899



TITRES UNIVERSITAIRES ET SCIENTIFIQUES

Docteur en médecine (1885).

Lauréat de l'Institut, prix Bréant (1884).

— prix Alberto Lévi (1895)

Lauréat de l'Académie de médecine, prix Mombine (1884).

— prix Saint-Paul (1896).

Membre de l'Académie de médecine (1896).

FONCTIONS

Aide de clinique à la Faculté de médecine (1874-1878).

Préparateur au laboratoire de M. Pasteur (1878-1885).

Sous-directeur adjoint au laboratoire de M. Pasteur (1885-1888).

Chef de service à l'Institut Pasteur (1888-1895).

Sous-directeur à l'Institut Pasteur (1896).

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I

Admis en qualité de préparateur, au laboratoire de M. Pasteur, en 1878, au moment où cet Illustre Maître venait d'entreprendre l'étude des maladies infectieuses, M. Roux a eu l'honneur, avec MM. Chamberland et Thuillier, d'être associé aux mémorables recherches sur l'étiologie du charbon, l'atténuation des virus, la vaccination contre le charbon, la prophylaxie de la rage. Ces travaux, qui ont amené le triomphe des doctrines pastoriennes, sont connus de tous.

Voici la liste des communications de M. Pasteur auxquelles M. Roux a collaboré.

MALADIES VIRULENTES

Sur les maladies infectieuses et en particulier sur la maladie appelée vulgairement choléra des poules (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 9 février 1880).

De l'extension de la théorie des germes à l'étiologie de quelques maladies communes (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 20 mai 1880).

Sur une maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 24 janvier 1880).

CHOLÉRA DES POULES

Sur le choléra des poules. Étude des conditions de la non-récidive de la maladie et de quelques autres de ses caractères (*Bulletin Acad. de méd.*, 27 avril 1880).

Sur l'atténuation du choléra des poules (*Bulletin Acad. de méd.*, 26 octobre 1880).

CHARBON

Sur l'étiologie de l'affection charbonneuse (*Bulletin Acad. de méd.*, 21 octobre 1879).

Sur l'étiologie du charbon (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 12 juillet 1880).

Sur la longue durée de la vie des germes charbonneux et leur conservation dans les terres cultivées (*Bulletin Acad. de méd.*, 1er février 1881).

Sur la constatation des germes du charbon dans la terre de la surface des fosses où on a enfoui des animaux charbonneux (*Bulletin Acad. de méd.*, 8 mars 1881).

De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 28 février 1881).

De la possibilité de rendre des moutons réfractaires au charbon par la méthode des inoculations préventives (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 21 mars 1881).

Le vaccin du charbon (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 21 mars 1881).

Compte rendu sommaire des expériences faites à Pouilly-le-Fort, près Melun, sur la vaccination charbonneuse (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 13 juin 1881).

RAGE

Sur la rage (*Bulletin Acad. de méd.*, 30 mai 1881).

Nouveaux faits pour servir à l'histoire de la rage (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 11 décembre 1882).

Nouvelle communication sur la rage (*Bulletin Acad. de méd.*, 26 février 1884).

Sur la rage (*Bulletin Acad. de méd.*, 20 mai 1884).

II

En outre des travaux qui viennent d'être cités et pour lesquels M. Roux a été, avec MM. Chamberland et Thuillier, le collaborateur de M. Pasteur, M. Roux a publié les notes suivantes :

CHARBON

Sur l'atténuation de la bactéridie charbonneuse et de ses germes, sous l'influence des substances antiseptiques. En commun avec M. Chamberland. (*Comptes rendus Acad. des Sciences*, 9 avril et 14 mai 1883.)

La bactéridie charbonneuse cultivée en bouillon, à la température de 35°, donne rapidement des spores. Ces spores, très résistantes aux divers agents, assurent la conservation du microbe avec toute sa virulence. Pour modifier celle-ci, il faut empêcher la formation des germes, de façon que dans la culture il y ait seulement des bactéridies filamenteuses beaucoup plus sensibles aux actions modificatrices. MM. Pasteur, Chamberlandet Roux ont montré, qu'à la température de 42°,5, le bacille du charbon ne fait pas de germes et que, dans ces conditions, il perd peu à peu de sa virulence. Cette expérience a été le point de départ des études sur l'atténuation des virus et la vaccination charbonneuse.

Il est possible d'obtenir par d'autres procédés des cultures de char-

bon sans spores. L'addition de certaines substances antiseptiques au bouillon de culture donne de bons résultats. Ainsi, le bacille du charbon croît, à la température de 35°, dans du bouillon additionné de 1/1200 à 1/800 d'acide phénique, mais sans faire de germes. Avec une proportion d'antiseptique inférieure à 1/1200°, les spores se forment. La bactéridie qui reste ainsi à l'état mycélien perd peu à peu sa virulence.

Si, dans cette culture sans germes, on fait à diverses époques des prises de semence et qu'on porte celles-ci dans du bouillon ordinaire, on obtient une série de cultures filles ; la virulence de chacune d'elles est celle de la culture mère au moment où la prise de semence a été faite. Ces cultures nous fournissent des cultures charbonneuses de plus en plus atténuées, et comme elles donnent des germes, chacune d'elles conserve indéfiniment la virulence atténuée qui lui est propre. On crée ainsi des races atténuées de bactéridies qui peuvent servir à vacciner les bœufs et les moutons contre le charbon.

Des cultures de charbon en bouillon additionné de bichromate de potasse restent aussi sans spores et s'atténuent peu à peu. Ces bactéridies transmettent à leur descendance leur virulence atténuée.

Au cours de ces expériences nous avons obtenu des bactéridies qui avaient perdu définitivement la propriété de faire des spores. Elles tuaient encore les animaux et pouvaient passer un grand nombre de fois dans le corps des cobayes et des lapins sans reprendre la propriété de sporuler. Elles constituent une race nouvelle asporogène.

De l'action de la chaleur et de l'air sur les spores du charbon.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, août 1887.)

Les spores du charbon résistent, en milieu humide, pendant 10′ à une température de 95° ; elles sont tuées en moins de 5′ lorsqu'on les chauffe

à 100°. On peut les chauffer à 70° pendant des heures sans les faire périr. C'est l'action de cette température longtemps prolongée qui est étudiée dans ce mémoire.

Toutes les spores charbonneuses ne résistent pas également à la chaleur, chacune a une résistance particulière. Le premier effet du chauffage est de retarder la germination et cela d'autant plus que l'action de la chaleur a été plus prolongée. Après un certain nombre d'heures à 70°, les germes sont tués. Ceux qui sont chauffés en présence de l'air périssent plus tôt que ceux qui sont chauffés sans air. Dans une expérience, les germes aérés restaient stériles après 66 heures de chauffe à 70°, tandis que ceux qui étaient à l'abri de l'air donnaient encore des cultures après 165 heures.

Les germes charbonneux chauffés à 70° en présence de l'air, pendant 36 heures, puis inoculés directement aux animaux ne les faisaient pas périr. Ils n'ont cependant pas perdu leur virulence, puisque ensemencés dans du bouillon ils donnent une culture très meurtrière. Le nom de virus atténué doit être réservé aux virus qui transmettent leurs propriétés atténuées dans les générations successives.

De l'action de la lumière et de l'air sur les spores du charbon.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1889.)

Les spores du charbon périssent quand elles sont exposées au soleil, en milieu humide, au contact de l'air. Elles résistent beaucoup plus longtemps quand elles sont insolées à l'abri de l'air. Après 83 heures d'insolation, à une température qui n'a pas dépassé 39°, les spores, à l'abri de l'air, donnaient encore des cultures, tandis que celles qui étaient au contact de l'air ont été trouvées stériles après 50 heures d'exposition au soleil.

Le bouillon dans lequel on cultive la bactéridie charbonneuse est modifié, après 3 heures d'insolation au contact de l'air, au point que les spores

charbonneuses n'y germent plus, les bactéridies filamenteuses s'y développent facilement.

Vaccination des lapins contre le charbon. En commun avec M. Chamberland. (*Annales de l'Institut Pasteur*, novembre 1887.)

Il est très utile de savoir immuniser les petits animaux de laboratoire contre le charbon, afin de pouvoir multiplier les expériences sur l'immunité. L'inoculation du premier, puis du second vaccin, telle qu'elle est pratiquée sur les moutons et les bœufs, ne réussit pas avec les lapins et les cobayes. Ces animaux succombent le plus souvent à l'inoculation du second vaccin. Pour immuniser les cobayes et les lapins, il faut répéter plusieurs fois l'injection du premier vaccin avant de donner le second, ou même injecter successivement trois ou quatre virus d'activités croissantes intermédiaires entre celles du premier et du second vaccin employés pour les moutons.

Un procédé qui réussit bien sur le lapin, c'est l'injection intra-veineuse de fortes doses de premier vaccin. On répète ces injections trois fois à huit jours d'intervalle et l'on injecte ensuite le second vaccin sous la peau. Le premier vaccin injecté ainsi dans les veines des lapins ne reste pas dans le sang. Après quelques heures, on le trouve dans le foie et dans la rate. Les bactéridies ne pullulent pas dans ces organes et sont contenues dans l'intérieur des phagocytes. Nous nous sommes demandés si l'immunité acquise dans ces circonstances n'était pas due à la destruction des corps bactéridiens dans l'organisme.

Bactéridie charbonneuse asporogène.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1890.)

La propriété de donner des spores est très caractéristique de la bactéridie charbonneuse. Cependant, ce microbe peut la perdre sans retour. Dans ce mémoire, nous indiquons des procédés qui permettent d'obtenir sûrement la bactéridie asporogène. Celle-ci peut être très virulente, renforcée par passages à travers les animaux elle tue rapidement les moutons, elle reste cependant privée de la propriété de faire des spores. Si l'on atténue cette bactéridie asporogène par les méthodes habituelles, on obtient un microbe inoffensif pour les animaux, ne donnant pas de spores et que le bactériologiste le plus exercé ne pourrait reconnaître comme le descendant de la redoutable bactéridie du charbon.

C'est là un exemple saisissant des modifications que les microbes peuvent subir, ils sont pour ainsi dire plastiques et peuvent être façonnés au gré de l'expérimentateur.

La vaccination charbonneuse.
(*Conférence faite au comice agricole du département de l'Aube*, avril 1882.)

CHOLÉRA

Sur le choléra d'Égypte. En commun avec MM. Straus, Nocard et Thuillier.
(*Revue scientifique*, novembre 1883.)

Préparations microscopiques sur le choléra. En commun avec M. Straus.
(*Société de biologie*, 9 août 1888.)

Sur le choléra. En commun avec M. Straus.
(*Société de biologie*, 10 novembre 1887.)

Toxine et antitoxine cholérique. En commun avec MM. El. Metchnikoff et Taurelli-Salimbeni. (*Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1896.)

Le choléra est causé par le développement, dans l'intestin, d'un microbe spécial, le bacille-virgule de Koch. Ce vibrion ne se répand pas dans le corps, il pullule dans l'intestin où il élabore un poison dont l'absorption détermine les symptômes de la maladie.

Puisque le choléra est un empoisonnement, il y a donc un grand intérêt à connaître le poison cholérique. Beaucoup d'expérimentateurs ont essayé de le tirer des cultures du vibrion de Koch.

En 1895, au moment où nos recherches ont été entreprises, la plupart des bactériologistes admettaient, avec M. Pfeiffer, que le poison cholérique est contenu dans le corps même des vibrions. En effet, ceux-ci, tués par la chaleur ou un antiseptique, font périr les cobayes auxquels on les injecte. Dans ces conditions, les microbes ne peuvent ni pulluler, ni élaborer une toxine dans l'organisme; s'ils tuent, c'est qu'ils renferment dans leur corps une substance toxique. Elle n'en sort, d'après M. Pfeiffer, que lorsque les vibrions se désagrègent. Ainsi les toxines solubles trouvées dans les cultures ne seraient que le poison plus ou moins modifié des cadavres microbiens. De même, pour le choléra humain, la toxine formée dans l'intestin a pour origine les vibrions morts qui seraient toujours au milieu des vibrions vivants.

Au mois de juillet 1895, dans un travail fait sous l'inspiration de M. Behring, M. Ransom a annoncé qu'il était parvenu à extraire des cultures cholériques un poison soluble d'une grande activité. Avec cette toxine, on peut préparer un sérum antitoxique en accoutumant les animaux à son action.

M. Pfeiffer combat les assertions de M. Ransom, qui, dit-il, n'a point obtenu la vraie toxine cholérique, mais une modification de celle-ci. Quant aux propriétés du sérum antitoxique annoncé, M. Pfeiffer ne croit pas qu'elles soient supérieures à celles du sérum normal provenant de divers animaux. D'ailleurs, la discussion entre MM. Pfeiffer et Ransom ne pouvait aboutir, puisque M. Ransom n'avait pas fait connaître le mode de préparation de la toxine cholérique.

Une expérience très simple nous a permis de montrer qu'il existe un poison cholérique soluble et diffusible. Préparons un sac de collodion de 3 à 4 centimètres de capacité et, après l'avoir stérilisé, introduisons dedans une solution de peptone à 2 0/0, ensemencée avec une trace de vibrion cholérique virulent; puis fermons hermétiquement l'orifice du sac. Dans un deuxième sac de collodion semblable au premier, mettons le même liquide dans lequel on a délayé deux cultures entières de vibrions sur gélose, après avoir tué les microbes au moyen des vapeurs de chloroforme. Plaçons maintenant ces sacs dans le péritoine de deux cobayes de même poids. Un troisième reçoit dans la cavité abdominale, un sac de même dimension que les précédents, mais ne contenant que du bouillon stérilisé.

Le cobaye témoin reste en bonne santé. Celui qui a le sac aux vibrions morts a une petite élévation de température, maigrit un peu, puis se rétablit. Quant au cobaye porteur du sac ensemencé avec les vibrions vivants, il cesse de manger après 24 heures ; le deuxième jour il a de l'hypothermie et il meurt bientôt avec tous les signes de l'empoisonnement cholérique. A l'autopsie on trouve les lésions typiques de l'infection cholérique et cependant ni la sérosité péritonéale, ni le sang du cœur, ni la pulpe des organes ne renferment de vibrions. Ceux-ci ne sont point sortis du sac, qui est rempli d'un liquide trouble, laiteux, fourmillant de vibrions agiles. Ce qui est sorti du sac en diffusant à travers la paroi, c'est la toxine soluble produite pendant la période de vie active des vibrions. Notre sac est comme une anse intestinale artificielle où nous réalisons une culture cholérique, et notre

cobaye succombe à un empoisonnement semblable de tout point à celui que l'on observa dans le choléra humain.

Cette expérience montre, jusqu'à l'évidence, l'existence du poison cholérique soluble et diffusible.

On le trouve aisément dans les cultures faites *in vitro*, à condition qu'elles soient ensemencées avec un vibrion très actif, qu'elles se fassent rapidement au large contact de l'air. Dans ce mémoire, nous donnons avec tous les détails, les procédés qui nous ont le mieux réussi pour obtenir cette toxine cholérique. Bien préparée, elle tue les cobayes de 500 grammes à la dose de 1/5 de centimètre cube sous la peau. Elle peut être chauffée à 100° sans perdre de son activité, mais elle s'affaiblit rapidement au contact de l'air.

Une fois en possession de la toxine cholérique soluble, nous avons essayé d'immuniser des animaux. Nous y sommes parvenus en suivant le procédé classique des injections ménagées et répétées. Au bout de six mois, des chevaux qui avaient reçu des injections graduées de toxine fournissaient un sérum antitoxique.

Ce sérum, mélangé à la toxine, la neutralise; injecté aux animaux, il leur permet de supporter des doses plusieurs fois mortelles de poison. Il est efficace aussi contre le vibrion cholérique vivant et préserve les cobayes contre l'infection vibrionienne intra-péritonéale. Il est donc à la fois antimicrobien et antitoxique.

M. Pfeiffer nous a appris que si l'on injecte aux animaux, d'abord de petites doses de vibrions cholériques tués, puis des quantités plus considérables, on les immunise contre les vibrions vivants. Le sérum de ces animaux est très efficace contre l'infection cholérique, c'est-à-dire qu'à dose infiniment petite, il empêche de mourir les cobayes inoculés dans le péritoine avec des vibrions vivants. Ce sérum est antimicrobien; est-il antitoxique? Pas du tout, mélangé à la toxine il n'atténue nullement ses effets.

Voici donc que, suivant le procédé d'immunisation des animaux, on

obtient des sérums antimicrobiens ou antitoxiques. Les animaux qui reçoivent les corps de microbes, fournissent un sérum antimicrobien seulement; ceux qui ont été accoutumés à la toxine soluble, ont un sérum à la fois antimicrobien et antitoxique[1].

Cependant, il est certain que le poison cholérique qui existe dans les corps des vibrions, est le même que le poison soluble trouvé dans le liquide de culture. En effet, l'empoisonnement causé par les vibrions tués ressemble absolument à celui déterminé par la toxine soluble. Et d'ailleurs en faisant macérer, dans certaines conditions, les corps de vibrions, on peut en extraire de la toxine soluble. Donc, que les animaux reçoivent de la toxine soluble ou des corps de vibrions, ils reçoivent en définitive le même poison. Pourquoi les résultats sont-ils si différents?

Nous en trouverons la raison en suivant ce qui se passe quand on introduit dans le péritoine d'un cobaye des corps de vibrions tués. Ils sont bientôt englobés par les leucocytes polynucléaires. De sorte que, dans ce cas, le vibrion et la toxine qui lui est adhérente passent par le leucocyte polynucléaire et n'ont de relations qu'avec lui. Le poison cholérique est pour ainsi dire injecté à l'état insoluble avec les vibrions, en même temps qu'eux il est saisi par les phagocytes, en même temps qu'eux aussi il est digéré dans leur intérieur. De sorte que, il n'arrive pas aux autres systèmes cellulaires. Les injections successives de corps vibrioniens ne font qu'exalter la fonction phagocytaire et accoutument les seuls leucocytes polynucléaires à l'action de la toxine. Le résultat de cette digestion dans les leucocytes polynucléaires, c'est l'obtention d'un sérum antimicrobien. Il semble donc que l'on soit autorisé à dire que la substance spécifique du sérum préventif est élaborée par les leucocytes polynucléaires, et que ceux-ci ne font point l'antitoxine.

Lorsqu'on injecte de la toxine soluble, elle diffuse rapidement dans l'or-

1. Rappelons que le premier exemple de sérum anti-microbien a été donné par MM. Richet et Héricourt à propos d'une septicémie particulière qu'ils ont étudiée.

ganisme, et peut atteindre les divers systèmes cellulaires. Une partie sans doute est prise par les leucocytes polynucléaires, et c'est pour cela que le sérum des animaux immunisés par la toxine soluble est toujours antimicrobien ; mais de plus il est antitoxique, et l'antitoxine est préparée par quelques-unes de ces cellules auxquelles arrive le poison soluble : cellules que nous ne pouvons pas désigner encore, parce qu'il est bien plus difficile de surprendre les rapports d'une toxine dissoute avec un élément cellulaire, que ceux d'un corps microbien solide avec un phagocyte.

Une toxine introduite dans l'organisme, à l'état dissous ou à l'état fixé, entrera donc en relations avec des cellules différentes. C'est là une constatation d'une haute importance qui a jeté un peu de lumière sur le mécanisme de la formation des substances préventives et des substances antitoxiques, et qui a conduit à séparer les sérums thérapeutiques en deux classes, les sérums antimicrobiens et les sérums antitoxiques.

Pour combattre le choléra de l'homme, qui est un empoisonnement, il faut un sérum antitoxique et non un sérum antimicrobien. Grâce aux expériences de M. Metchnikoff sur le choléra intestinal des jeunes lapins, encore nourris par la mère, nous avons pu essayer l'action du sérum antitoxique chez ces animaux qui prennent un choléra tout à fait semblable à celui de l'homme.

Les petits lapins qui reçoivent préventivement du sérum antitoxique résistent à l'ingestion du vibrion cholérique, tandis que ceux auxquels on donne, de la même façon, du sérum antimicrobien, meurent du choléra intestinal typique.

Le sérum antitoxique peut donc prévenir le choléra chez les jeunes lapins.

Celui que nous avons employé dans nos expériences n'était pas assez actif pour guérir les lapins qui avaient le choléra déclaré. Mais on a lieu d'espérer, qu'avec une antitoxine beaucoup plus forte, on obtiendra de meilleurs résultats. Si l'on guérissait le choléra intestinal des jeunes lapins, il est probable que l'on pourrait traiter efficacement le choléra de l'homme.

DIPHTÉRIE

Contribution à l'étude de la diphtérie. En commun avec M. Yersin.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1888.)

M. Klebs, le premier, a signalé, dans les fausses membranes diphtériques, un bacille spécial qu'il regarde comme la cause de la maladie. M. Löffler nous a appris à mettre ce bacille en évidence par la coloration et à le cultiver sur sérum coagulé. Il l'a trouvé dans presque tous les cas d'angine regardés comme diphtériques et, en l'inoculant sur les muqueuses excoriées de divers animaux, il a reproduit des fausses membranes analogues à celles de la diphtérie humaine. Malgré ces résultats si importants, M. Löffler ne s'est pas cru autorisé à affirmer que le bacille de Klebs est celui de la diphtérie, parce que chez les animaux qu'il a inoculés il n'a jamais observé les paralysies qui sont fréquentes dans la maladie humaine, et aussi parce qu'il a retiré le même bacille de la gorge d'un enfant sain, et qu'il ne l'a pas trouvé dans quelques cas d'angine à fausses membranes ayant tous les caractères de l'angine diphtérique.

Dans ce mémoire nous donnons la preuve définitive que le bacille de Klebs-Löffler est bien la cause de la diphtérie. Il caractérise cette maladie aussi sûrement que le bacille de Koch caractérise la tuberculose vraie. A l'état de culture pure, il est capable de provoquer sur les muqueuses des animaux, la formation de fausses membranes, et à la suite de ces diphtéries expérimentales on peut observer les paralysies diphtériques caractéristiques.

Le bacille de la diphtérie, inoculé aux animaux, se développe au point où il est introduit, il ne pullule pas dans le sang ni dans les organes;

a mort survient parce que, dans la culture localisée, il y a production d'une toxine très active qui se répand dans le corps.

La preuve qu'il en est ainsi, c'est que l'on peut retirer, des cultures du bacille diphtérique, en bouillon alcalin, un poison d'une activité extrême. Injecté aux animaux, ce poison les tue rapidement avec tous les symptômes et toutes les lésions que l'on observe après l'inoculation du bacille vivant. A doses plus faibles, il amène la mort plus lentement après que les animaux ont eu des paralysies typiques. La diphtérie est donc un empoisonnement, et le bacille diphtérique est le type des microbes toxiques, qui tuent, non parce qu'ils se généralisent, mais parce qu'ils sécrètent des poisons. Dans l'angine diphtérique, le bacille est dans la fausse membrane, à la surface de la muqueuse, presque en dehors du corps, et c'est là qu'il élabore la toxine qui détermine les symptômes généraux de la maladie. Ce mémoire sur la diphtérie a inauguré l'étude des maladies microbiennes toxiques.

Contribution à l'étude de la diphtérie, 2e Mémoire. En commun avec M. Yersin. (*Annales de l'Institut Pasteur*, juin 1889.)

La toxine joue le grand rôle dans la diphtérie. Ce mémoire est consacré à l'étude de ses propriétés.

On prépare la toxine en cultivant le bacille diphtérique dans du bouillon alcalin. L'alcalinité du milieu est nécessaire à sa production. Après 15 jours à 5 semaines de séjour à l'étuve, la culture est filtrée sur une bougie Chamberland. On obtient ainsi un liquide clair dans lequel le poison est en solution. A la dose de 1/10e à 1/40e de centimètre cube il tue en quelques heures un cobaye de 500 grammes.

Cette toxine est meurtrière pour les cobayes, les lapins, les oiseaux, les chiens, les moutons, etc.; les rats et les souris sont particulièrement

insensibles à son action. A petites doses elle détermine des paralysies, le plus souvent suivies de mort chez les petits animaux. Cependant les chiens, qui n'ont reçu que très peu de toxine, peuvent guérir après avoir été complètement paralysés, et dans ce cas, la maladie évolue comme la paralysie humaine qui guérit souvent.

Le poison diphtérique est altéré par la chaleur; déjà à la température de 58° il perd son activité. Chauffé à 100°, il est devenu presque inoffensif. Il est détruit rapidement au contact de l'air, à la lumière ; il se conserve longtemps en vases clos, maintenus à l'obscurité. L'alcool le précipite ; il est entraîné par le précipité de phosphate de chaux que l'on forme dans les liquides où il est en solution. Toutes ces propriétés rapprochent le poison diphtérique des diastases. D'ailleurs, il est produit par une cellule vivante, le bacille diphtérique, et les êtres vivants sont grands producteurs d'enzymes.

Ce rapprochement entre la toxine diphtérique et les diastases a été fécond, il a donné l'essor à toute cette série de travaux sur les poisons microbiens qui ont tant avancé la science des maladies contagieuses. Avant lui, on pensait que les toxines microbiennes étaient de la nature des alcaloïdes, et toutes les recherches étaient orientées dans cette voie. On cherchait en vain le poison tétanique avec les méthodes qui servent à isoler les alcalis organiques. M. Kund Faber l'a trouvé facilement le jour où il a pensé qu'il était de la nature des enzymes.

Avec le poison diphtérique, nous sommes en présence de corps d'une extraordinaire activité dépassant de beaucoup celle des alcaloïdes les plus violents. Une dose de toxine qui est certainement inférieure à 1 centième de milligramme suffit à tuer un cobaye. Les venins eux-mêmes n'ont pas une puissance meurtrière aussi grande. On comprend alors comment une culture de bacilles diphtériques, à la surface d'une muqueuse peut fournir en peu de temps de quoi empoisonner un enfant.

La toxine jouant le principal rôle dans la diphtérie, il devenait évident

que l'immunisation contre cette maladie devait consister dans une accoutumance au poison diphtérique.

Contribution à l'étude de la diphtérie, 3e Mémoire. En commun avec M. Yersin. (*Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1890.)

Ce travail a été fait à l'hôpital, au lit même des malades ; il montre combien l'examen bactériologique est indispensable à celui qui est chargé d'un service de maladies infectieuses. Il peut en tirer les indications les plus sûres pour le diagnostic, pour le pronostic et le traitement.

Il n'y a diphtérie que lorsque le bacille de Klebs-Löffler existe dans les fausses membranes. La bactériologie définit la maladie par sa cause, et nous permet de différencier la diphtérie vraie des angines à fausses membranes dues à une tout autre cause. Le médecin le plus exercé peut se tromper à ces pseudo-diphtéries, le bactériologiste n'y sera pas pris. Il lui suffit d'un simple ensemencement sur sérum pour porter, dans l'immense majorité des cas, un diagnostic sûr en moins de vingt-quatre heures. Souvent, un simple examen de la fausse membrane au microscope sera suffisant. L'examen bactériologique permet aussi des diagnostics précoces, avant que les fausses membranes aient apparu. Aujourd'hui, aucun médecin ne se chargerait d'un service de diphtériques s'il n'y était pas préparé par des études bactériologiques. La clinique elle-même, telle qu'on l'entendait autrefois, celle qui diagnostique d'après les symptômes et les lésions, tire le plus grand profit de l'intrusion de la bactériologie sur son domaine. Le clinicien dont l'erreur a été redressée par l'examen d'une culture apprend à mieux voir, et il constate bientôt qu'il y a des différences symptomatiques entre ces cas qu'il confondait et que la bactériologie lui a signalés distincts.

L'histoire des angines, notamment des angines à fausses membranes, n'a

commencé à s'éclaircir que depuis qu'on les examine bactériologiquement. C'est aux méthodes nouvelles que l'on doit la notion des angines associées, qui correspondent cependant à des types cliniques particuliers mais non débrouillés jusqu'alors.

Au point de vue du pronostic, le médecin tirera des indications précieuses du nombre des colonies microbiennes et de la virulence des bacilles qui les composent.

Grâce au procédé de l'ensemencement sur sérum, il pourra suivre la disparition des bacilles dans la gorge des enfants qui guérissent. Il verra, que chez quelques-uns, les bacilles diphtériques persistentl ongtemps après la chute des fausses membranes, et que ces enfants guéris peuvent encore semer la maladie. Il apprendra aussi que les produits diphtériques desséchés conservent longtemps leur virulence, et il comprendra la nécessité de désinfecter les linges et les locaux souillés par les malades. Cette prophylaxie, fondée sur la connaissance des propriétés du bacille infectieux, est la seule scientifique.

Dans ce travail, nous nous sommes encore occupés de la virulence du bacille diphtérique contenu dans les fausses membranes. Quand on isole un grand nombre de colonies et qu'on les inocule aux cobayes, à côté de microbes qui tuent très vite, on en rencontre qui font périr les animaux seulement au bout d'un temps assez long, et d'autres qui produisent simplement de l'œdème sans amener la mort. Ces divers bacilles ont tous l'aspect et les caractères du bacille diphtérique; ils diffèrent simplement par la virulence. Il y a donc dans la nature des bacilles diphtériques de virulence variable depuis ceux qui tuent les animaux en quelques heures jusqu'à ceux qui sont inoffensifs. Par des artifices de culture, on peut atténuer artificiellement le bacille diphtérique le plus actif et obtenir expérimentalement des bacilles si atténués qu'ils ne tuent plus les animaux. Lorsque le bacille diphtérique atténué est encore capable de produire un petit œdème local chez les cobayes, on peut augmenter sa

virulence et en faire un bacille mortel en l'associant à un autre microbe tel que le streptocoque.

Ces constatations nous ont paru avoir une certaine importance, parce qu'elles peuvent expliquer certains cas de diphtérie observés en dehors de toute contagion.

En effet, les expérimentateurs sont d'accord sur ce point à savoir : que l'on rencontre parfois dans la bouche d'enfants bien portants des bacilles qui ont tous les caractères du bacille diphtérique, mais qui n'ont aucune virulence. Beaucoup, en font une espèce spéciale, qu'ils appellent pseudo-diphtérique et qui n'aurait aucune parenté d'origine avec le vrai bacille diphtérique. Nous pensons qu'il convient de distinguer entre ces pseudo-diphtériques, et que, parmi eux, il en est qui sont de la même souche que le bacille diphtérique, et par conséquent capables de devenir virulents dans certaines circonstances. En effet, les bacilles diphtériques atténués expérimentalement, dont nous parlions tout à l'heure, ne se distinguent pas des bacilles pseudo-diphtériques trouvés sur les muqueuses saines, et il est possible cependant de leur rendre leur activité.

Quelques-uns de ces bacilles dits pseudo-diphtériques et regardés comme inoffensifs pourraient bien, dans certains cas, être le point de départ d'une diphtérie grave et devenir l'origine d'épidémies de diphtérie vraie. Ces retours à la virulence de microbes atténués ne sont pas pour surprendre.

Contribution à l'étude de la diphtérie, sérum-thérapie. En commun avec M. Martin. (*Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1894; *Congrès de Buda-Pesth*, septembre 1894.)

Après la célèbre communication de MM. Behring et Kitasato, sur la présence de l'antitoxine dans le sang des animaux immunisés contre la diphtérie, chacun s'efforça de répéter les expériences de ces savants. Nous

avons consacré les années 1891 et 1892 à étudier l'immunisation des petits animaux de laboratoire et à constater la propriété préventive de leur sérum. Ce travail préliminaire achevé, nous avons entrepris d'immuniser de grands animaux, tels que des chevaux, pour nous procurer les quantités de sérum nécessaires au traitement des enfants atteints de diphtérie. Les années 1892 et 1893 furent employées à ce labeur. Pour avoir un bon sérum antitoxique, il faut injecter aux animaux immunisés une toxine très active. La préparation de la toxine nous a donc occupé tout d'abord. Puis il a fallu régler la meilleure façon de conduire l'immunisation des chevaux pour qu'ils fournissent un bon sérum et qu'en même temps ils restent bien portants.

Une fois l'antitoxine obtenue, il était nécessaire d'étudier ses propriétés et la manière de la conserver. Avant d'entreprendre des essais sur l'homme, nous avons expérimenté sur des cobayes et des lapins, afin de bien connaître la puissance préventive et curative du sérum.

Des séries de cobayes et de lapins ont reçu une dose mortelle de toxine diphtérique, puis on leur a donné du sérum à des temps variables après l'injection. On a ainsi constaté que l'antitoxine agit d'autant mieux qu'elle est donnée plus tôt; il arrive un moment où elle ne sauve plus qu'une partie des animaux, plus tard elle est impuissante. Des animaux ont été aussi injectés au moyen du bacille diphtérique, soit sous la peau, soit à la surface des muqueuses ou dans la trachée, de façon à produire chez eux une diphtérie tout à fait comparable à celle des enfants, et ensuite on les a traités par le sérum antitoxique. Dans ces conditions la guérison est facile, à condition qu'on intervienne assez tôt après l'infection; car, il y a un délai après lequel, l'empoisonnement étant accompli, l'injection du sérum est inefficace. De tous ces essais ressortait la puissance admirable de l'antitoxine donnée en temps utile et à dose assez forte.

Trois cents cas de diphtérie traités par le sérum anti-diphtérique. En commun avec MM. Martin et Chaillou. (*Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1894; *Congrès de Buda-Pesth*, septembre 1894.)

On ne saurait s'entourer de trop de précautions pour établir qu'un nouveau traitement d'une maladie est réellement efficace. Nous nous sommes efforcés, de faire l'essai de l'antitoxine diphtérique, dans des conditions telles, que l'épreuve fut aussi probante qu'une expérience de laboratoire.

Du 1er février au 24 juillet 1894, tous les enfants entrés au pavillon de la Diphtérie, à l'hôpital des Enfants-Malades, ont été traités par le sérum, quel que fût leur état, sans aucun choix, de sorte que les résultats des mois de traitement peuvent être mis en regard de ceux qu'on avait auparavant, ils sont comparables. Rien n'a été changé aux soins donnés aux malades; le sérum est le seul élément nouveau introduit : c'est donc à lui qu'il faut attribuer les changements survenus. L'expérience a été faite pendant les mois d'hiver, où la diphtérie est fréquente et grave, et pendant les mois d'été où elle est notablement plus rare. La statistique du service de la diphtérie était établie, pour les années antérieures, avec un soin parfait par M. le Directeur de l'hôpital et par Mme la Surveillante; elle nous fournissait tous les éléments nécessaires à une comparaison. D'ailleurs, il existe à Paris un autre hôpital d'enfants, avec un service de diphtériques : c'est l'hôpital Trousseau; le sérum n'y était pas employé, il était pour nous comme un hôpital témoin. Enfin, lorsque nous aurons dit que le service où nous faisions l'expérience était celui où MM. Roux et Yersin avaient fait leurs recherches sur la diphtérie, et où MM. Martin et Chaillou avaient étudié cliniquement et bactériologiquement 400 cas de diphtérie, on reconnaîtra qu'il nous était facile de saisir les modifications que le nouveau traitement allait apporter à la marche habituelle de la maladie.

La mortalité moyenne pendant les années 1890, 1891, 1892 et 1893, au pavillon de la Diphtérie, a été de 51,71 %.

Du 1er février au 24 juillet 1894, le traitement par le sérum a été appliqué. Sur 448 enfants entrés au pavillon, il y a eu 109 décès, soit 24,5 %.

Toutes les conditions étant restées les mêmes, la différence entre 51,71 % et 24,5 %, mesurait le bénéfice procuré par le traitement.

Pendant les mois de février, mars, avril, mai et juin 1894, il entrait à l'hôpital Trousseau 520 enfants qui ne recevaient pas de sérum; il en est mort 316, soit une mortalité de 60 %.

La mortalité des angines diphtériques, qui dans les années précédentes était en moyenne de 33,94 %, est descendue à 12 % sous l'influence du traitement. Dans le même temps, elle était, à l'hôpital Trousseau, sans l'emploi du sérum, de 32 %.

La mortalité des croups opérés, qui dans les années précédentes était en moyenne de 73,19 %, est tombée à 49 % pendant les mois de traitement. Dans le même temps, elle était, à l'hôpital Trousseau, sans l'emploi du sérum, de 86 %.

Ces chiffres suffisent à montrer l'efficacité du traitement par l'antitoxine. Ils permettent d'espérer mieux encore pour l'avenir, car ils ont été obtenus dans un service dont l'installation défectueuse favorisait toutes les contagions.

L'action bienfaisante du sérum se fait sentir dans les heures qui suivent l'injection. Le développement des fausses membranes est arrêté ; elles se détachent en général après 24 ou 36 heures. La température s'abaisse promptement, le pouls est influencé plus tardivement et ne revient à la normale qu'après deux ou trois jours. L'état général des enfants s'améliore très vite, à moins qu'ils n'aient reçu le sérum à une période trop avancée de l'affection. On ne voyait plus que rarement dans les salles des figures pâles et plombées, et le séjour des malades à l'hôpital était diminué.

Cette expérience sur une grande échelle permit de préciser les meil-

leures conditions pour l'emploi du sérum et de fixer les doses nécessaires suivant les cas. Il était évident que le sérum se montrait d'autant plus efficace qu'il était donné plus tôt. Pour les enfants diphtériques, comme pour les cobayes inoculés, il ne faut pas laisser passer le délai utile. Si l'on injecte le sérum quand l'empoisonnement est fait, on n'évitera pas la mort, ou, si l'enfant résiste, il aura une longue convalescence, et souvent il sera atteint de paralysie diphtérique. Injectez le sérum dès le début de la maladie, c'est ce qu'on ne saurait trop répéter aux médecins.

Les enfants, atteints de croup diphtérique, échappent à la trachéotomie, si on leur donne du sérum assez tôt et à haute dose. Le traitement par le sérum a diminué, dans une proportion considérable, les interventions chirurgicales, et a permis de substituer, dans la grande majorité des cas, le tubage à la trachéotomie, au grand bénéfice des petits malades.

La lecture de ce travail au Congrès international d'hygiène, tenu à Buda Pesth en 1894, parut si probante, que la sérothérapie de la diphtérie entra du coup dans la pratique. On sait qu'elle a tenu ses promesses, et, aujourd'hui, la mortalité par diphtérie à Paris n'est plus que le cinquième de ce qu'elle était autrefois.

Chaque jour nous apprécions davantage la grande découverte de MM. Behring et Kitasato. Quant à nous, nous n'avons qu'un seul mérite, c'est d'avoir prouvé assez clairement l'excellence du nouveau traitement pour qu'il se soit répandu, pour ainsi dire, sans rencontrer d'obstacle.

PÉRIPNEUMONIE

Le microbe de la péripneumonie. En commun avec M. Nocard, avec la collaboration de MM. Borel, Salimbeni et Dujardin-Beaumetz. (*Congrès de Madrid*, 12 avril 1898; *Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1898.)

Dans la péripneumonie des bovidés, les cloisons cellulaires entre les lobules pulmonaires sont infiltrées d'une sérosité abondante. Celle-ci est souvent parfaitement limpide; au microscope, même en ayant recours à la coloration par des couleurs d'aniline, on n'y voit aucune forme précise. Cependant, cette sérosité contient le virus de la maladie; une goutte, inoculée sous la peau d'une vache, détermine, après une incubation de neuf à dix jours au moins, un gonflement chaud, douloureux et envahissant. La température de l'animal augmente, l'état général devient mauvais et il peut succomber en quelques jours. Cette sérosité péripneumonique, si virulente pour les bovidés, est sans action sur les animaux de laboratoire. Les cobayes, les lapins, peuvent en recevoir des quantités énormes sans en souffrir.

Nous voici donc en présence d'une sérosité très active, donnant aux bovidés une maladie spécifique dans laquelle on ne voit aucun microbe, au microscope, et qui ne donne aucune culture dans les divers milieux où on l'ensemence.

Lorsqu'on injecte un microbe virulent à une espèce animale réfractaire, il est bientôt englobé par les cellules phagocytaires et digéré dans leur intérieur. Si l'on pouvait soustraire le microbe au contact des cellules défensives de l'organisme, peut-être pullulerait-il dans les humeurs de l'animal réfractaire.

Pour réaliser ces conditions, nous avons eu recours aux sacs de collodion

qui nous ont servi dans nos études sur le choléra. Dans un sac de collodion stérilisé, nous introduisons du bouillon ordinaire, ensemencé avec une goutelette de sérosité péripneumonique pure, c'est-à-dire qui ne donne pas de culture dans les milieux ordinaires. Puis, nous fermons hermétiquement le sac et nous l'introduisons dans le péritoine d'un lapin, en même temps qu'un autre semblable, mais non ensemencé. Après trois semaines, nous retirons les sacs et nous trouvons dans celui qui a reçu la semence, une sérosité opalescente différente du liquide contenu dans le sac témoin. Cette sérosité sert à ensemencer un deuxième sac, qui est retiré après trois semaines, et qui fournit la matière d'ensemencement d'un troisième, et ainsi de suite. La sérosité d'un sixième sac de passage est inoculée sous la peau d'une vache. Après 12 jours d'incubation, il se développe un engorgement envahissant caractéristique. Donc, le virus de la péripneumonie s'est développé dans le liquide des sacs, car après six ensemencements successifs il est certain qu'il n'y a pour ainsi dire plus trace de la gouttelette de sérosité primitive.

Ce qu'il y a de surprenant, c'est que cette culture qui donne très bien la maladie ne paraît contenir aucun corps en suspension ; elle est à peine opaline et il faut la regarder avec soin pour la distinguer du liquide non ensemencé. Au microscope, on y voit des points très fins agités d'un vif mouvement. La coloration à la thionine permet d'y distinguer de petits éléments allongés, ressemblant à des bacilles courts, mais tout cela est si petit que l'on ne peut le définir d'une façon précise.

Nous avons donc fait des cultures successives d'un microbe que nous ne pouvons pas voir, et désormais il faudra compter avec les infiniment petits qui échappent même à l'investigation microscopique. Il faut nous familiariser avec l'idée qu'il peut y avoir une culture microbienne dans un liquide restant tout à fait limpide.

La culture dans les sacs se fait dans des conditions tout à fait particulières. Des matières venant de l'organisme passent dans le sac, d'autres

préparées par le microbe en sortent, si bien que celui-ci ne reste pas au contact des produits qu'il élabore. Chez les lapins, auxquels on introduit à la fois deux sacs ensemencés par la péripneumonie, l'amaigrissement survient, et les animaux finissent par succomber à un véritable empoisonnement.

Puisque la culture du microbe de la péripneumonie est possible, il faut l'obtenir en dehors du péritoine du lapin, dans un liquide préparé artificiellement. On y est parvenu en ajoutant à une solution de peptone spéciale un peu de sérum. Dans ce liquide, le microbe de la péripneumonie pullule, en donnant cette opalescence légère, qui échapperait facilement à qui n'est pas averti; mais il pullule, puisqu'une trente-quatrième culture a donné à une vache l'engorgement caractéristique.

La culture d'un microbe aussi petit est évidemment très intéressante au point de vue général; elle peut servir de point de départ pour l'étude de virus qui ont jusqu'à présent résisté à tous nos moyens d'investigation; elle est importante aussi au point de vue de l'économie rurale, la péripneumonie étant parmi les maladies qui font subir de lourdes pertes à l'agriculture. La culture du virus facilitera les inoculations préventives et conduira sans doute à des moyens plus précis de diagnostiquer la maladie; peut-être même permettra-t-elle d'obtenir un sérum curatif de la maladie. En tout cas, elle rend possible l'expérimentation sur tous ces sujets qui paraissaient naguère si difficile à aborder.

RAGE

Nouvelles acquisitions sur la rage. (*Thèse de Paris*, 1883.)

Dans cette thèse, on trouve l'exposé des travaux sur la rage exécutés au laboratoire de M. Pasteur pendant les années 1881, 1882, 1883, et qui ont conduit à la vaccination antirabique.

Sur un moyen de conserver les moelles rabiques avec leur virulence.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, février 1889.)

Les moelles rabiques, immergées dans la glycérine pure, conservent leur virulence pendant plusieurs mois.

Sur la présence du virus rabique dans les nerfs.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1888.)

Sur la présence du virus rabique dans les nerfs.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, février 1889.)

Comment le virus rabique va-t-il, du point où il est déposé par la morsure, aux centres nerveux? On a supposé qu'il se propageait le long des nerfs et l'on a expliqué ainsi les signes prémonitoires de la rage, tels que les démangeaisons et les douleurs au lieu de la morsure. L'expérience prouve, en effet, que le virus rabique, déposé dans un nerf, atteint les centres nerveux, et que les premiers signes de la maladie se montrent dans la région innervée par le nerf inoculé. Cependant, le virus déposé dans un des nerfs d'un membre peut atteindre la moelle sans causer

aucun trouble dans le membre, comme s'il se propageait en suivant quelques faisceaux nerveux sans causer de lésion appréciable.

Chez les personnes mordues à une main, et qui succombent à la rage, on trouve en général le virus rabique dans les nerfs du bras mordu; on en trouve aussi parfois, mais en moindre quantité, dans les nerfs de l'autre bras. Jamais le virus rabique n'est aussi abondant dans les nerfs que dans les centres nerveux.

Sur l'immunité conférée aux chiens par injection intra-veineuse.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1888.)

Si l'on injecte dans les veines de chiens, de grandes quantités d'une émulsion de moelle rabique desséchée depuis plusieurs jours, c'est-à-dire dépourvue de virulence, on leur donne l'immunité.

A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés? En commun avec M. Nocard. (*Annales de l'Institut Pasteur*, mars 1890.)

C'est là une question d'une grande importance pratique. Le virus rabique se cultive dans les centres nerveux et de là il peut passer dans les nerfs. C'est sans doute par cette voie qu'il arrive dans la bouche des animaux enragés. Du cerveau à la bouche, le trajet est court, et le virus peut se trouver dans la bave, même pendant cette période de culture latente du virus dans les centres nerveux, durant laquelle l'animal ne manifeste aucun signe de rage facilement reconnaissable. Trois jours avant l'apparition des symptômes rabiques, nous avons prélevé de la salive chez des chiens inoculés : celle-ci était virulente. Cela explique, comment on a pu affirmer quelquefois, que la morsure de chiens bien portants avait donné la rage.

ROUGET DU PORC

Sur le rouget du porc. (*Société de biologie*, 21 novembre 1885.)

Cette note contient la description du bacille du rouget du porc dans les organes des animaux et dans les cultures. Elle était accompagnée d'une série de clichés photographiques montrant le bacille dans les cultures et dans les tissus.

TÉTANOS

Contribution à l'étude du tétanos. Sérum-thérapie. Prévention et traitement. En commun avec M. Vaillard. (*Annales de l'Institut Pasteur*, février 1893.)

Ce travail a été entrepris en 1891, aussitôt après la publication du célèbre mémoire de MM. Behring et Kitasato sur la présence de l'antitoxine dans le sang des animaux immunisés contre le tétanos. Il a été poursuivi en 1892 et 1893, à une époque où paraissaient des renseignements contradictoires sur les propriétés thérapeutiques du sérum antitétanique. Tandis que MM. Behring et Kitasato affirmaient que l'antitoxine guérit les animaux atteints de tétanos grave et déjà avancé, M. Vaillard déclarait qu'elle n'empêche pas de mourir les souris et les cobayes rendus tétaniques. M. Tizonni ne réussissait pas non plus à guérir les animaux d'expérience, mais il publiait toute une série de cas de tétanos humain traités avec succès au moyen du sérum antitétanique. M. Rénon, au contraire, échouait dans deux tentatives faites sur l'homme. Il était donc nécessaire, d'entreprendre une étude expérimentale de la sérothérapie du

tétanos chez les animaux, afin d'appliquer le traitement à l'homme dans les meilleures conditions de succès.

Tout d'abord, nous avons étudié les procédés d'immunisation contre le tétanos; nous nous sommes arrêtés à l'emploi de la toxine iodée. L'iode en solution dans l'iodure de potassium modifie la toxine tétanique de façon qu'elle peut être injectée sans danger aussi bien aux lapins et aux cobayes qu'aux chevaux et aux vaches. La toxine iodée convient très bien pour commencer l'immunisation. Après quelques injections on constate de l'antitoxine dans le sang. A partir de ce moment on peut donner de la toxine pure, à doses croissantes. En quelques mois, on prépare ainsi des animaux qui fournissent une antitoxine extrêmement active.

Les propriétés de cette antitoxine se manifestent par des faits, faciles à vérifier, et devenus classiques depuis la publication de MM. Behring et Kitasato. Mélangée, dans un verre, avec du poison tétanique, elle rend celui-ci inoffensif. L'antitoxine se combine-t-elle avec la toxine en la saturant comme un acide sature un alcali? ou agit-elle comme une enzyme en dédoublant la toxine en substances inoffensives? Cette question est difficile à résoudre parce que nous n'avons pas d'autre moyen que l'injection aux animaux pour déceler la toxine et l'antitoxine. Dans ce mémoire nous rapportons des expériences où tout se passe comme si l'antitoxine détruisait la toxine, mais elles ne nous donnent aucun éclaircissement sur la réaction qui se produit.

Les animaux, auxquels on injecte de l'antitoxine, supportent ensuite, sans en souffrir, des doses énormes de toxine; ils ont l'immunité contre le tétanos. On pensait que cette immunité est durable, comme celle des animaux devenus réfractaires par accoutumance du poison tétanique. Il n'en est rien: l'immunité qui suit l'injection du sérum antitétanique est acquise immédiatement, mais elle ne dure pas, elle décroît en même temps que l'antitoxine diminue dans le corps de l'animal, et elle disparaît après quelques jours ou quelques semaines suivant la dose introduite. Elle est

bien différente de l'immunité active, lente à s'établir, mais persistante, que l'on obtient après l'injection de toxine chauffée ou de toxine iodée.

L'antitoxine est surtout abondante dans le sérum sanguin, nous ne savons pas encore où elle se produit. Des saignées répétées ne l'épuisent pas, elle est donc sans cesse sécrétée dans le corps de l'animal réfractaire. Elle diminue dans le sang quand on suspend les injections de toxine, mais on en trouve encore chez des animaux qui n'ont pas reçu de toxine depuis plusieurs années.

Cette étude préliminaire de la préparation et des propriétés de l'antitoxine devait précéder celle de la prévention et de la guérison du tétanos chez les animaux.

On peut donner le tétanos, soit en injectant une dose mortelle de toxine, soit en introduisant sous la peau ou dans les muscles du bacille tétanique qui se développe et sécrète la toxine d'une façon continue. Dans le premier cas, la dose de poison est limitée, mais donnée d'un seul coup; dans le second elle est inconnue, mais elle n'est absorbée que peu à peu, au fur et à mesure de sa production. De ces deux cas d'infection, c'est le second qui se rapproche le plus des conditions dans lesquelles l'homme et les animaux prennent le tétanos.

Prévention du tétanos. — Lorsqu'on introduit sous la peau d'un animal une dose mortelle de toxine tétanique, les contractures n'apparaissent pas d'emblée, elles ne se montrent qu'après une période d'incubation qui varie suivant la dose, mais qui, chez les souris et les cobayes, n'est pas inférieure à 12-18 heures. Nous dirons que le sérum est donné préventivement s'il est injecté avant l'apparition de tout symptôme tétanique. L'injection préventive de l'antitoxine pourra être faite soit avant celle de la toxine, soit après, pendant la période d'incubation.

L'expérience montre que la prévention du tétanos n'est complète que si le sérum antitétanique est introduit 40 minutes au moins avant la toxine. Si l'on injecte simultanément dans une patte postérieure d'un cobaye

de l'antitoxine et dans l'autre patte de la toxine il y aura toujours un tétanos localisé à la patte qui a reçu le poison; les contractures restent limitées à quelques muscles et disparaissent à la longue.

Le tétanos se montrera donc toujours, quand le sérum sera donné après la toxine, pendant la période d'incubation, mais il sera d'autant moins étendu que l'injection préventive sera pratiquée plus tôt après celle de la toxine. La dose d'antitoxine nécessaire pour empêcher la mort est d'autant plus forte que l'incubation est plus avancée. Après un certain temps, malgré qu'aucun signe de tétanos ne soit encore apparu, la prévention n'est plus possible, même avec de grandes quantités de sérum.

Chez les animaux infectés par le bacille tétanique, introduit dans les tissus, la prévention dépend encore de la quantité de sérum employée et du temps écoulé entre le moment de l'infection et celui de l'intervention. Ils ne meurent pas si le sérum est donné promptement, ils succombent le plus souvent s'il est injecté 12 heures après l'injection, surtout si celle-ci a été pratiquée de façon à donner un tétanos à marche rapide. Les animaux qui sont restés bien portants, grâce à l'antitoxine, peuvent devenir tétaniques au bout de deux ou trois semaines, si l'on n'a pas enlevé le point d'inoculation. En effet, les bacilles tétaniques y restent vivants et, lorsque l'effet préservateur du sérum est passé, les contractures apparaissent et aboutissent à la mort. Dans ces cas, pour avoir une prévention définitive, il faudrait renouveler les injections préventives.

Traitement du tétanos déclaré. — S'il est déjà difficile de prévenir le tétanos, en injectant l'antitoxine peu de temps avant l'apparition des contractures, il sera plus malaisé encore de le guérir quand il est déclaré. Nos expériences ont porté sur les souris, les cobayes, les moutons. Dans une première série, le tétanos était produit par l'introduction sous la peau d'une dose sûrement mortelle de toxine tétanique. Le traitement était commencé aussitôt que l'on remarquait une gêne dans la patte inoculée, et les doses de sérum, injectées d'emblée, étaient suffisantes pour rendre le

sang des animaux fortement antitoxique. Cependant, presque tous ont succombé comme les témoins.

Lorsque les contractures se montrent, l'empoisonnement des cellules nerveuses est déjà accompli, et si l'antitoxine peut neutraliser le poison circulant, elle ne peut rien contre des lésions déjà faites.

L'homme et les animaux prennent presque toujours le tétanos à la suite d'un traumatisme, surtout lorsqu'un corps étranger est resté dans les tissus. Pour réaliser une infection expérimentale semblable à l'infection naturelle nous avons introduit sous la peau ou dans les muscles des animaux de petites échardes de bois chargées de spores tétaniques. Placées dans le tissu sous-cutané ces échardes donnent un tétanos à incubation assez longue et à marche pas trop rapide, de sorte que l'on a plus de temps pour faire le traitement. Aucun des animaux traités dans ces conditions n'a guéri. Quelques-uns ne sont morts que plusieurs jours après les témoins; leur maladie paraissait arrêtée, puis elle s'aggravait brusquement. L'écharde tétanisante, restée dans le tissu cellulaire, continuait à fournir de la toxine; les bacilles se maintenaient actifs chez ces animaux dont les humeurs contenaient de l'antitoxine. Lorsque cette recrudescence de la maladie se produit, le pouvoir antitoxique du sang est en général diminué, mais il n'a pas disparu, et le sérum de ces animaux, qui succombent au tétanos, est capable de préserver, de cette maladie, les cobayes auxquels on l'injecte, même à faible dose.

Ce qui ressort de ces expériences, c'est la nécessité d'enlever le foyer tétanigène, pour arrêter la fabrication continue de la toxine, et celle de renouveler les injections de sérum. Malgré tout on échouera souvent, comme le prouve l'exemple de ce mouton inoculé à l'extrémité de la queue, avec une écharde chargée de spores, il prit le tétanos le 12e jour et mourut le 16e, malgré qu'on lui ait amputé la queue et injecté 160 centimètres cubes de sérum, dès l'apparition de la maladie.

Quand les échardes tétanisantes sont fichées dans les muscles, le tétanos

évolue rapidement. Nous n'avons pu guérir aucun des animaux ainsi infectés, quelle que fût la quantité de sérum injectée dès le début des symptômes.

Traitement du tétanos chez l'homme. — Après avoir multiplié les essais sur les animaux, nous avons entrepris le traitement des hommes tétaniques au moyen de l'antitoxine.

Dans les hôpitaux, il est assez rare de voir les tétaniques dès le début des contractures ; ils viennent se faire soigner quand le trismus est déjà prononcé, c'est-à-dire à un moment où l'empoisonnement du système nerveux est accompli. L'antitoxine, qu'on leur injecte, neutralise le poison circulant et celui qui est incessamment produit dans le foyer ; elle limite l'empoisonnement, elle est donc toujours utile, mais elle ne peut rien contre l'intoxication réalisée. Il ne faut pas compter qu'elle fera rétrocéder des lésions déjà faites, la mort est fatale si celles-ci sont étendues et rien ne permet d'en juger lorsqu'on est en présence d'un tétanos au début.

Nous rapportons dans ce travail les observations détaillées de 7 cas de tétanos humain traités par le sérum à haute dose : 5 malades ont succombé, 2 ont guéri. Depuis 1893, nous avons soigné plus de cinquante cas de tétanos avec l'antitoxine, et nos observations nouvelles ne modifient pas notre conclusion ancienne à savoir, qu'*en présence d'un cas de tétanos déclaré la seule chose utile est l'injection de l'antitoxine, non pour guérir un empoisonnement accompli, mais pour empêcher qu'il ne devienne plus grave encore. Dans la majorité des cas, quand les contractures sont prononcées, il est déjà trop tard.*

Ces résultats pouvaient être aisément prévus d'après ce que nous avions observé chez les animaux. Puisque le traitement du tétanos déclaré est si difficile, il faut essayer de prévenir la maladie.

Toute plaie peut servir d'entrée au bacille tétanique, dont les spores sont communes dans la terre et dans les poussières. Mais il est des blessures

qui sont plus fréquemment suivies de tétanos : ce sont les blessures par écrasement, par arme à feu, et aussi celles, insignifiantes en apparence, produites par l'introduction dans les tissus d'une épine, d'une écharde de bois, d'un éclat de verre. Pourquoi, dans ces cas, le médecin n'injecterait-il pas préventivement du sérum antitétanique? Si cette pratique se généralisait, assurément bien du sérum serait employé inutilement, puisque le tétanos est relativement rare, mais assurément aussi un certain nombre de blessés lui devraient la vie. Ces injections préventives, que nous recommandions en 1895, sont très employées aujourd'hui. Dans les hôpitaux de Paris, on ne manque pas d'injecter préventivement du sérum à ceux qui ont des plaies souillées de terre, ou à ceux qui ont des corps étrangers introduits dans les tissus. Les résultats sont excellents, et jamais le tétanos n'apparaît chez ceux qui sont ainsi traités préventivement. Les vétérinaires ont fait leur profit de la nouvelle méthode ; ils donnent le sérum antitétanique aux chevaux sur lesquels ils pratiquent certaines opérations, souvent suivies de tétanos, telles que les opérations sur le pied et surtout la castration. M. Nocard, qui a beaucoup fait pour répandre cette pratique dans la médecine vétérinaire, a publié des statistiques tout à fait probantes. On peut donc dire aujourd'hui que, si nous ne savons pas guérir le tétanos, nous savons sûrement le prévenir.

Tétanos cérébral et immunité contre le tétanos. En commun avec M. le Dr A. Borrel. (*Congrès de Madrid*, 12 avril 1898; *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 avril 1898.)

Le tétanos est un empoisonnement de certaines cellules du système nerveux. La toxine tétanique, injectée sous la peau ou dans le sang, va les atteindre de préférence. Il existe donc une affinité véritable entre la cellule nerveuse et le poison tétanique. Cette affinité se manifeste *in vitro* dans l'expérience suivante, inspirée par celle de MM. Wassermann et Takaki. De

la substance cérébrale d'un cobaye est broyée, puis additionnée de toxine tétanique : le mélange, soumis à l'action de la turbine, se sépare en deux couches ; au fond du vase, la matière nerveuse, au-dessus, le liquide opalin. Si les proportions de cerveau et de toxine sont bien choisies, on constate que le liquide ne contient presque plus de poison tétanique. Celui-ci, fixé par le tissu nerveux, s'est déposé en même temps que lui. Il adhère aux débris de substance cérébrale, et peut, de nouveau, être mis en évidence.

Cette affinité spéciale des éléments nerveux pour la toxine s'exerce quand on introduit un peu de celle-ci dans la substance même du cerveau d'un lapin. On détermine ainsi une maladie caractéristique, le tétanos cérébral, qui se manifeste par des crises épileptiformes, des troubles moteurs et de la polyurie, qui ne rappellent en rien le tétanos ordinaire.

L'injection dans le cerveau est un moyen d'explorer la sensibilité des cellules nerveuses vis-à-vis des diverses toxines. En mettant à profit cette nouvelle méthode, on peut aussi, et en se servant de poisons qui se fixent sur les cellules nerveuses, explorer les divers territoires de l'encéphale, qui réagiront chacun à leur manière.

La méthode des injections intra-cérébrales nous permet de savoir ce qu'est devenue la sensibilité des cellules nerveuses, chez les animaux immunisés de diverses façons contre le tétanos.

Un animal, qui a reçu du sérum antitétanique, acquiert l'immunité dite passive, et résiste à des doses plusieurs fois mortelles de toxine, mises sous sa peau, dans ses muscles ou dans ses veines. Est-ce parce que ses cellules nerveuses sont devenues insensibles au poison? Pour le savoir, à des lapins auxquels on a donné, vingt-quatre heures auparavant, 10^{cc} de sérum antitétanique, injectons un peu de toxine tétanique dans le cerveau. Ils prennent le tétanos cérébral, malgré que leur sang soit antitoxique à un haut degré. L'expérience réussit de même avec la toxine diphtérique chez les lapins qui ont reçu préalablement de l'antitoxine diphtérique.

Le sérum antitoxique injecté à ces animaux n'a donc pas protégé leurs cellules nerveuses. Celles-ci n'ont pas pour l'antitoxine la même affinité que pour la toxine. Aussi l'antitoxine reste-t-elle dans le sang et n'arrive-t-elle pas au contact du poison fixé par la substance nerveuse. Le sérum est efficace contre la toxine mise sous la peau, puisque la majeure partie de celle-ci passera par le sang, mais il est impuissant contre le poison déjà arrivé aux éléments nerveux. C'est pourquoi dans le tétanos déclaré il échoue si souvent. Au moment où on l'emploie, une partie de la toxine est fixée sur les cellules nerveuses et hors de l'atteinte de l'antitoxine.

S'il en est ainsi, ce n'est pas dans le sang des tétaniques qu'il faut accumuler l'antitoxine pour les guérir; il faut la mettre dans le centre nerveux, là même où progresse la toxine, et essayer de préserver ainsi les portions vitales de la moelle, avant qu'elles soient atteintes.

Des cobayes ont été rendus tétaniques, soit par l'injection de toxine, soit par l'introduction d'échardes dans les muscles. Lorsque le tétanos était manifeste, on a injecté aux uns de fortes doses de sérum sous la peau : ils ont succombé. Aux autres, on a introduit quelques gouttes du même sérum dans la substance cérébrale, le tétanos a été arrêté, même quand l'intervention a eu lieu 15 heures après le début de la contracture.

On peut donc dire que quelques gouttes de sérum antitétanique, dans le cerveau, guérissent mieux le tétanos du cobaye, que de grandes quantités, mises sous la peau ou dans le sang. Il ne suffit pas de donner de l'antitoxine, il faut la mettre au bon endroit.

Il va sans dire que si le tétanos est trop avancé, que si la moelle supérieure est déjà atteinte par le poison, l'injection intra-cérébrale ne sauvera pas les animaux. Il peut même arriver qu'un animal dont le tétanos serait bulbaire dès le début ne guérirait pas mieux par le sérum injecté dans le cerveau que par le sérum injecté sous la peau.

L'injection intra-cérébrale de toxine tétanique nous a permis de rechercher si chez les animaux qui ont l'immunité active contre le tétanos les

cellules nerveuses sont encore sensibles au poison. Ces animaux immunisés ont reçu progressivement des doses croissantes de toxine tétanique, de façon à produire une accoutumance. Comme les cellules nerveuses sont celles qui sont sensibles au poison tétanique, il était permis de croire qu'elles se sont accoutumées peu à peu, et que cette accoutumance constitue précisément l'immunité.

L'expérience montra que des lapins, activement immunisés, prenaient le tétanos cérébral. Ces lapins sont capables de supporter, sans malaise, de la toxine à doses massives sous la peau ou dans les veines, capables aussi de fournir une antitoxine active, et cependant leurs cellules nerveuses sont encore sensibles au poison tétanique. Comment admettre, comme le veut M. Ehrlich, que ce soient elles qui préparent l'antitoxine? Il semble plutôt que, pendant tout le cours de l'immunisation, elles n'aient jamais été en contact avec la toxine. L'immunité dans le tétanos ne serait donc point l'accoutumance des cellules nerveuses au poison tétanique.

Ces recherches sur l'immunité acquise devaient nous conduire à l'étude de l'immunité naturelle.

Certains animaux supportent des doses considérables de toxines microbiennes, sans y avoir été graduellement habitués. Ainsi, le rat ne souffre nullement d'une dose de poison diphtérique qui tuerait plusieurs lapins; on en a conclu que les cellules du rat sont naturellement insensibles à la toxine diphtérique. Cependant, il suffit d'injecter une très petite quantité de toxine dans le cerveau du rat, pour provoquer chez lui une paralysie diphtérique généralisée et mortelle. Le cerveau du rat est donc sensible au poison diphtérique, et si cet animal ne meurt pas à la suite de l'injection de grandes quantités de toxine dans le tissu sous-cutané, c'est que celle-ci n'arrive pas à l'encéphale. Elle est arrêtée quelque part dans le corps.

Le lapin passe pour être réfractaire à l'action de la morphine; une injection de 30 centigrammes de chlorhydrate de morphine est parfaite-

ment supportée par un animal de moins de 2 kilogrammes. L'introduction d'un seul milligramme dans le cerveau cause sûrement la mort. Les cellules nerveuses du lapin ne sont donc pas insensibles à la morphine. Lorsque ce rongeur résiste à l'injection hypodermique d'une grande dose de cet alcaloïde, c'est que celui-ci n'arrive pas aux cellules cérébrales.

La conclusion de tous ces faits est que dans l'immunité acquise comme dans l'immunité naturelle, vis-à-vis de certains poisons du système nerveux, la résistance n'est pas due à une accoutumance ou à une insensibilité naturelle des cellules nerveuses. Les toxines introduites sous la peau et dans le sang ne les atteignent pas, malgré qu'elles aient pour elles une affinité manifeste. Ces poisons sont sans doute retenus par d'autres cellules qui exercent un rôle de protection et fabriquent probablement les antitoxines : peut-être par les cellules phagocytaires que l'on voit, en maintes circonstances, capables de détruire les poisons contenus dans les corps microbiens. Il nous semble que le problème de l'immunité contre les microbes et celui de l'immunité contre les toxines recevront des solutions semblables.

TUBERCULOSE

Sur la culture du bacille de la tuberculose. En commun avec M. Nocard.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1887.)

En 1887 la culture du bacille de la tuberculose était encore regardée comme difficile. Pour obtenir sûrement une première culture, en ensemençant des produits tuberculeux, sur le sérum coagulé, d'après le procédé de Koch il fallait employer un grand nombre de tubes, car quelques-uns seulement donnaient des cultures. Une première culture obtenue, les suivantes étaient plus faciles, le bacille étant adapté au milieu artificiel.

Une méthode donnant des cultures plus sûrement et plus rapidement devait faciliter l'étude du bacille tuberculeux. On améliore beaucoup les milieux de culture en y ajoutant de 4 à 6 % de glycérine. La glycérine est de toutes les substances hydrocarbonées celle que préfère le bacille tuberculeux, c'est son aliment de prédilection. Tous les milieux qui renferment de la glycérine deviennent propres au développement du bacille tuberculeux. Il pousse sur pomme de terre, sur gélose et en bouillon à condition qu'on ajoute de la glycérine.

Ces milieux glycérinés ont permis de cultiver en grand le bacille tuberculeux et d'étudier les produits qu'il élabore, notamment la tuberculine de Koch qui était appelée à une si haute renommée.

Depuis ce mémoire, les milieux glycérinés ont pris place dans la technique bactériologique; ils servent surtout pour la culture du groupe des streptothrycées.

TECHNIQUE BACTÉRIOLOGIQUE

Sur la culture des microbes anaérobiés.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, février 1887.)

Sur la photographie appliquée à l'étude des microbes.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1887.)

Culture des microbes sur pomme de terre.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1888.)

Sur un régulateur de température, applicable aux étuves
(*Annales de l'Institut Pasteur*, 1891.)

VIRULENCE ET IMMUNITÉ

Sur la récupération et l'augmentation de la virulence du charbon symptomatique. En commun avec M. Nocard. (*Annales de l'Institut Pasteur*, juin 1887.)

M. Arloing venait de publier la eurieuse expérience suivante : Le virus du eharbon symptomatique, atténué au point qu'il ne tue plus les eobayes, reprend toute sa virulenee si on le laisse en eontaet pendant quelques heures avee une solution forte d'aeide laetique. Le virus ains traité est même plus actif que le virus originel. Nous avons montré que dans ce contaet avec l'aeide laetique, le bacille du charbon symptomatique n'acquiert en réalité aucune propriété nouvelle. L'acide laetique, qu'on injecte en même temps que lui, amène une lésion des tissus qui ne se défendent plus contre le mierobe, comme le feraient des tissus sains. D'autres substanees néerosantes telles que l'aleool produisent le même effet. Il n'est même pas besoin d'associer les virus à une substanee étrangère, il suffit de faire une contusion d'un musele et d'injeeter le baeille atténué au point lésé pour qu'il se montre très virulent.

Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles.
En commun avec M. Chamberland. (*Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1887.)

L'idée que les microbes agissent sur l'organisme des animaux au moyen des substances qu'ils sécrètent est ancienne dans la seience. Mais elle n'a été prouvée expérimentalement que lorsque M. Pasteur, injectant à une poule une culture filtrée du microbe du choléra des poules, reproduisit chez cet animal tous les symptômes de la maladie. Si les produits

solubles élaborés par les microbes agissent ainsi sur les animaux, peut-être sont-ils capables de leur donner l'immunité? Plusieurs expérimentateurs se sont efforcés de démontrer qu'il en est ainsi. Il faut citer M. Salmon qui a donné l'immunité aux pigeons avec des cultures stérilisées du bacille du hog-choléra, M. Beumer qui a rendu des souris réfractaires au bacille typhique au moyen de cultures tuées par la chaleur. M. Pasteur, en janvier 1887, écrit que l'immunité produite par l'injection des moelles rabiques est sans doute causée par les substances solubles spécifiques élaborées par le microbe rabique inconnu. M. Charrin, en novembre 1887, montre que les lapins, qui ont reçu de grandes doses du liquide où a vécu le bacille pyocyanique, résistent à l'inoculation de ce microbe.

Dans ce mémoire, nous donnons la preuve qu'on peut immuniser des animaux contre le vibrion septique, en leur injectant des cultures chauffées qui ne contiennent aucun microbe vivant. Nous obtenons des résultats encore plus démonstratifs, en introduisant sous la peau de cobayes la sérosité septique, recueillie sur des animaux qui viennent de succomber à la septicémie aiguë. Cette sérosité, filtrée sur une bougie Chamberland, ne contient plus aucun microbe; cependant, à dose de quelques centimètres cubes, elle tue les cobayes avec tous les symptômes de l'infection septique. Elle contient donc un poison, et les animaux qui meurent de septicémie succombent à un véritable empoisonnement. Donnée aux cobayes, à doses ménagées, cette sérosité leur confère l'immunité. Pour qu'un animal acquière l'immunité contre un microbe, il n'est donc pas nécessaire que son organisme entre en conflit avec lui, il suffit qu'il soit mis au contact des produits solubles que le microbe élabore. Or, ces substances sont toxiques; injectées peu à peu elle donnent l'immunité : celle-ci est donc la conséquence de l'introduction dans l'organisme de ces poisons microbiens.

A partir de 1887, les expériences dans cette direction se sont multipliées. On s'occupe moins du microbe que des produits qu'il fabrique, et l'on entre dans le chemin au bout duquel on devait rencontrer les antitoxines.

Immunité contre le charbon symptomatique conférée par des substances solubles. (*Annales de l'Institut Pasteur*, février 1888.)

Les expériences de ce mémoire sont calquées sur celles du travail précédent. Elles conduisent cependant à un fait inattendu, à savoir que les cobayes immunisés contre le charbon symptomatique le sont aussi contre la septicémie, tandis que l'inverse n'a pas lieu. Ce fait a été confirmé par M. Duentschmann.

Sur l'immunité contre le charbon, conférée par des substances chimiques. En commun avec M. Chamberland. (*Annales de l'Institut Pasteur*, août 1888.)

M. Toussaint avait avancé que l'on peut vacciner des moutons contre le charbon, en leur injectant quelques centimètres cubes de sang charbonneux, chauffé à 55°, pendant quelques minutes. M. Toussaint en concluait, qu'il existe, dans le sang charbonneux, une substance spéciale, non vivante, capable de donner l'immunité. Nous avons montré que l'expérience de M. Toussaint ne prouve pas qu'il en soit ainsi, car la température de 55° n'est pas suffisante pour tuer toutes les bactéridies; celles-ci affaiblies, mais encore vivantes, sont peut-être la cause de l'immunité constatée chez les moutons. Cependant, l'idée de M. Toussaint est juste. Avec du sang charbonneux, dans lequel toutes les bactéridies ont été sûrement tuées par plusieurs chauffages à 58°, on peut donner l'immunité aux moutons, si toutefois on injecte des doses de sang suffisantes. Cette immunité est passagère et s'efface après quelques semaines. Elle ne peut, au point de vue de la pratique, être comparée à l'immunité solide et persistante des animaux vaccinés au moyen des virus atténués.

Sur la propriété bactéricide du sang de rat. En commun avec M. Metchnikoff.
(*Annales de l'Institut Pasteur*, août 1891.)

Les rats présentent une certaine résistance à la maladie charbonneuse, ces animaux, inoculés avec une bactéridie virulente, survivent souvent. M. Behring a cru trouver la raison de cette résistance dans les propriétés des humeurs du rat. Le sérum de cet animal empêche le développement de la bactéridie, et, si l'on injecte à une souris des bacilles du charbon mélangés à du sérum de rat, la souris ne prend pas le charbon. On en a conclu que le sérum du rat a une action bactéricide, ce qui expliquerait que cet animal soit réfractaire au charbon.

En examinant ces faits, nous avons vu que les choses ne se passent pas dans l'organisme comme dans le verre à expérience, et qu'il n'est pas rare de trouver des rats qui ont un sérum très bactéricide *in vitro*, et qui cependant succombent au charbon. Le sérum de ces rats est capable de préserver du charbon, une souris qui en reçoit une petite quantité sous la peau, mais il est impuissant à les sauver eux-mêmes. Le pouvoir bactéricide de leur sérum ne peut donc rendre compte de la résistance des rats au charbon.

L'action préventive que ce sérum exerce, quand il est injecté aux souris, en même temps que le virus charbonneux, n'est pas due à une immunisation de la souris, mais à l'influence directe du sérum sur la bactéridie et aussi à son pouvoir chimiotactique sur les leucocytes. Dans ce cas, comme dans tous ceux étudiés jusqu'ici, les phénomènes phagocytaires jouent un rôle important.

Les inoculations préventives, lecture faite à la Société Royale de Londres.
(*Croonian lecture*, 23 mai 1889.)

Les inoculations préventives. (*Société de Biologie*, 16 novembre 1889.)

De l'immunité : immunité acquise et immunité naturelle. (*Discours prononce au Congrès d'hygiène et de démographie de Londres.* Séance du 12 août 1891.)

Dans ces diverses communications sur l'immunité, nous avons envisagé celle-ci comme une accoutumance des cellules de l'organisme aux poisons microbiens. Mais quelles sont les cellules qui s'accoutument d'abord à ces toxines? Ce sont les cellules phagocytaires de Metchnikoff. L'immunité contre les microbes n'est que l'accoutumance des phagocytes aux substances toxiques élaborées par ces mêmes microbes. Cette immunité est la première acquise, et elle suffit à la protection de l'organisme. Ce qui ne veut pas dire que les autres systèmes cellulaires ne soient pas eux aussi capables de s'habituer aux toxines, mais dans l'immense majorité des cas ces immunités ne s'établissent pas, car elles sont inutiles. Nous avons montré le développement continu de la théorie phagocytaire qui, bien loin d'être ébranlée par les faits qu'on lui a opposés, en a tiré profit. C'est là une sûre garantie de sa solidité.

Sur les sérums antitoxiques. Communication faite au Congrès international de Buda-Pesth. (*Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1894.)

Les sérums curatifs se divisent en deux classes : ceux qui préservent contre l'action des microbes : sérums antimicrobiens; et ceux qui préservent à la fois contre l'action des microbes et celle des toxines : sérums antitoxiques.

Les sérums antimicrobiens agissent en excitant la fonction phagocytaire, c'est-à-dire en provoquant l'englobement et la digestion des bactéries par les phagocytes. Puisque ces sérums agissent comme des stimulants cellulaires, on conçoit que le sérum d'un animal puisse être efficace contre

une maladie pour laquelle il n'a pas l'immunité. Ainsi, M. Pfeiffer a montré que le sérum des hommes sains préserve les cobayes contre la péritonite cholérique.

Quant aux sérums antitoxiques, ils ont une spécificité beaucoup plus étroite. Le sérum antitétanique n'a point d'action sur la toxine diphtérique, et réciproquement. Cependant, des animaux qui n'ont point été immunisés contre une toxine peuvent fournir un sérum antitoxique vis-à-vis d'elle. Le sérum des lapins neufs n'a aucune action sur le venin des serpents; celui des lapins vaccinés contre la rage est antivenimeux. Mélangé au venin, il le rend inoffensif; injecté préventivement, il protège contre l'envenimation. Des lapins, vaccinés contre la rage, supportent des doses quatre et cinq fois mortelles de venin, comme le démontrent les expériences, faites dans mon laboratoire, par M. Calmette. N'est-il pas surprenant de voir qu'en rendant un lapin réfractaire à la rage, on lui donne, du même coup, l'immunité contre les morsures de serpent?

Comment l'antitoxine agit-elle sur la toxine? La sature-t-elle à la manière d'un acide neutralisant un alcali, ou laisse-t-elle la toxine intacte et rend-elle pour un temps les cellules aux corps insensibles à son action? Les expériences suivantes paraissent en faveur de cette dernière interprétation. D'ailleurs, quelle que soit la théorie qu'on en donne, elles sont intéressantes par elles-mêmes. Un mélange de toxine et d'antitoxine tétanique, tout à fait inoffensif pour des cobayes neufs, donne le tétanos à des cobayes parfaitement bien portants, mais qui ont reçu quelque temps auparavant du vibrion cholérique. Dans ce mélange, la toxine n'était donc pas détruite, mais elle n'a pas agi sur les cellules plus vivaces des cobayes neufs.

TRAVAUX SUR DIVERS SUJETS

Des variations de la quantité d'urée excrétée avec une alimentation normale et sous l'influence du thé et du café. (*Comptes rendus Acad. des Sciences*, 4 août 1873, et *Archives de physiologie*, 1874.)

Sur la non-existence du mycrosima cretæ. En commun avec M. Chamberland (*Comptes rendus Acad. des Sciences*, 16 mai 1881.)

Sur la non-existence du mycrosima cretæ. Réponse à M. Béchamps. En commun avec M. Chamberland. (*Comptes rendus Acad. des Sciences*, 30 mai 1881.)

Sur une levure qui ne sécrète pas de ferment inversif. (*Bulletin de la Société chimique de Paris*, 25 février 1881.)

L'Institut Pasteur. (*Conférence faite à la Société des Amis des sciences*, 29 mai 1894.)

L'œuvre médicale de Pasteur. (*Agenda du Chimiste*, 1896.)

La fermentation alcoolique et l'évolution de la microbie. (*Conférence faite à la séance solennelle de rentrée de l'Université de Lille*, 5 novembre 1898.)

ENSEIGNEMENT

Depuis l'année 1888, M. Roux a ouvert, à l'Institut Pasteur, un cours de bactériologie suivi par de nombreux médecins français et étrangers.

Il a reçu dans son laboratoire de jeunes savants dont les recherches ont été publiées dans les *Annales de l'Institut Pasteur*.